

# 日本のワサビ属植物におけるミロシナーゼ遺伝子の単離

岐阜大学 応用生物科学部 生産環境科学課程 山根 京子

## 【略歴】

平成10年4月 京都大学 大学院修士、博士課程（応用生物科学専攻）  
平成15年3月 博士（農学）（京都大学）  
平成15年4月 ナショナルバイオリソースプロジェクト-KOMUGI 博士研究員（京都大学）  
平成17年4月 大阪府立大学大学院 生命環境科学研究科 助教  
平成22年4月 岐阜大学 応用生物科学部 助教  
平成29年4月 岐阜大学 応用生物科学部 准教授

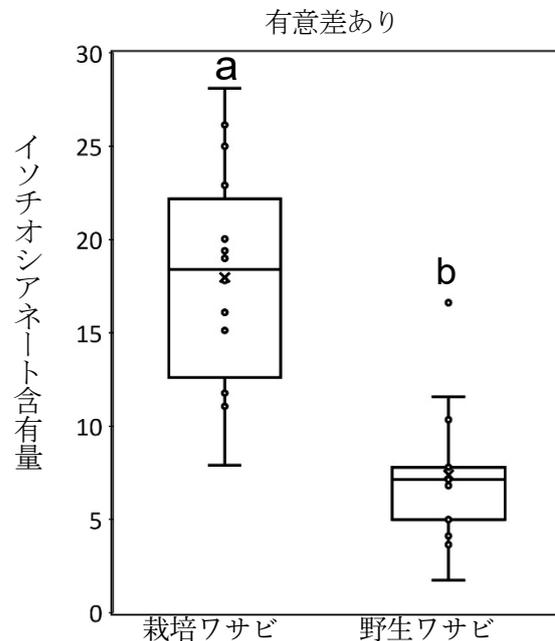
## 1. はじめに

ワサビは日本固有種であり、日本の食文化に欠かせない重要な香辛料である<sup>1</sup>。ツンとする辛味と独特の香りや風味は、アブラナ科に特徴的な二次代謝産物であるグルコシノレート（GSL）生合成産物を加水分解して得られるイソチオシアネートに由来している。病虫害の防除物質としても知られる一方で、近年は、人間の健康に寄与する重要な機能性成分として注目されている。ワサビにおいても、抗酸化作用や抗ガン作用など多数の報告がある。ところがワサビにおいては、GSL 生合成経路における種々の酵素をコードする遺伝子の配列情報などはほとんど明らかにされてこなかった。そのため「なぜ約3000種あるアブラナ科植物のなかでもワサビは独特の強い辛味を有しているのか」という、基本的かつ重要な問いに対して不明なままであった。生合成経路上の酵素をコードする遺伝子座には、いずれも複数のコピーが存在することが近年のゲノム解読から明らかになっており、ワサビにおいても同様の可能性が考えられた。一方、GSLを触媒するミロシナーゼ（EC.3.2.1.147）は、アブラナ科に特徴的なβ-チオグルコシダーゼであり、ワサビの辛味に大きな影響を与えていることが以前から推察されていた。ミロシナーゼはワサビにおいて今も昔も最も注目される遺伝子の一つといえる。シロイヌナズナやダイコン、カブのミロシナーゼ遺伝子のコピー数は、それぞれ4, 6, 4であるとされていたが、ワサビにおいては、タンパク質の分子量も他の植物に比べ倍以上であることや、サブユニット数も3から6倍と多く、巨大でかつ複雑な構造を有している可能性が示されていた。しかしながらゲノム情報は不十分でありミロシナーゼ遺伝子の配列情報や、ゲノム中にどれくらいのコピー数があるのか、その位置情報も不明なままであった。そこで我々は、染色体レベルで解読が完了したワサビゲノム情報を用いて、ミロシナーゼ遺伝子座のコピー数を明らかにし、染色体上の位置情報と塩基配列の多型情報について解析したので報告する。

## 2. 栽培ワサビの辛さはミロシナーゼが鍵を握る

山根は2005年よりワサビ研究を開始した。植物学、遺伝学などに関する基本的な知見を得るために全国300か所以上を調査し、地理的分布や形態情報の収集を行ってきた。その結果、日本のワサビ属植物が大陸から祖先種が移入してきた過程である「ワサビの来た道」を明らかにした<sup>2</sup>。また、現在、GSL成分のプロファイリングデータの収集を行っており、現時点で100をこえる系統で終了している。その結果、日本のワサビ属植物は20種類のGSLの存在が明らかとなっている。辛味の本体であるアリルイソチオシアネートや、アリルイソチオシアネートの次に含有量の多い、6-メチルスルフィニルに関しては、野生ワサビに比べて、栽培ワサビで有意に高い含有量がみられることが明らかとなった<sup>3</sup>（下図）。同様の分析を前駆体物質であるGSLに対して行ったところ、野生種と栽培ワサビの間で有意な差はみられなかった。これらの結果は、栽培と野生の成分含有量の違いは、ミロシナーゼの働きの違いによる可

能性があることを示している。ゲノムデータにより、栽培ワサビにおいては17遺伝子座が同一染色体上に座していることが示された。これまで調べられたアブラナ科植物におけるミロシナーゼ遺伝子座のコピー数としては最も多い結果となった。本研究で用いた栽培ワサビ品種は異質四倍体であり、二種類のゲノムが高いヘテロ性を維持している。こうした多様性がワサビの辛さにつながった可能性がある。



### 3. 今後の展望

ワサビにおいてミロシナーゼは最重要ともいえる酵素である。本研究で塩基配列が決定したものの、配列のどのような違いがワサビの辛味を決定しているのかという、基本的かつ重要な問いには答えられていない。当研究室は供試材料を豊富に保有しており、GSLのプロファイリングデータも蓄積されている。今後はこれらの遺伝資源を用いて、他のアブラナ科植物と比較解析をし、なぜワサビで独特の強い辛味成分が得られるようになったのか、に関する包括的な理解に向けて、ゲノム情報や酵素活性を計測するなどにより明らかにしたいと考えている。

### 謝辞

ワサビミロシナーゼ遺伝子配列の決定は、東京工業大学伊藤武彦教授、国立遺伝学研究所豊田敦教授、明治大学矢野健太郎教授と岐阜大学による共同研究により解読された全ゲノム配列を用いて行われました。イソチオシアネート分析は、金印株式会社（加藤朋恵氏、石田佳織氏、奥西勲氏）が、グルコシノレート分析は、東海国立大学機構名古屋・岐阜大学糖鎖生命コア研究所高島茂雄准教授、ならびに岐阜大学応用生物科学部植物遺伝育種学研究室の羽賀夏子氏、森田真菜氏、平海水緒氏、恒川麗奈氏らによって実施されました。その他ワサビ研究では、同研究室小林恵子氏をはじめ、多くの方々のご支援、ご協力を賜りました。心より感謝申し上げます。

<sup>1</sup>Yamane, K. et al.: Genetic differentiation, molecular phylogenetic analysis and ethnobotanical study of *Eutrema japonicum* and *E. tenue* in Japan and *E. yunnanense* in China. Hort. J. 85: 46-54, 2016.

<sup>2</sup>Haga, N. et al. Complete chloroplast genome sequence and phylogenetic analysis of wasabi (*Eutrema japonicum*) and its relatives. Sci. Rep. 9 2019.

<sup>3</sup>Yamane, K. et al. Allyl isothiocyanate and 6-(methylsulfinyl) hexyl isothiocyanate contents vary among wild and cultivated wasabi (*Eutrema japonicum*). Bree. Sci. (in press)